

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológia Doktori Iskola

Széleslevelű csenkesz (*Festuca* L.) taxonok levélanatómiai diverzitása

PhD értekezés tézisei

Dani Magdolna

Témavezetők:

dr. habil. Farkas Ágnes
Ph.D., egyetemi docens

Prof. Dr. Kovács J. Attila
C.Sc., professor emeritus



PÉCS, 2014

1. Bevezetés és célkitűzés

A pázsitfűvek a zárvatermők egyik legnagyobb (kb. 10 000 faj) és nagyon változatos megjelenésű családját (*Poaceae*) alkotják. A hétköznapi nyelven egyszerűen csak „fűeknek” nevezett pázsitfűfélék hasznossága általánosan elfogadott, hiszen ezek a nagy füves területek: rétek-legelők, udvarok, parkok, sportpályák, útszélek, változatos élőhelyek benépesítése mellett sok tenyésztett és vadon élő állat számára is a legfontosabb táplálékot jelentik. A pázsitfűvek ökológiai szempontból igen sikeres növények, egyes biotópokban mint sztyeppe, puszta, szavanna, préri, pampa egy teljes táplálékláncot fenntartva a növényállomány legnagyobb részét alkotják. Ugyancsak a pázsitfűfélék családjába tartoznak azok a gabonafélék (búza, árpa) amelyek őseink növénytermesztő életmódra való áttérésétől napjainkig a legfontosabb táplálékunkat jelentik. Ezért a pázsitfűfélék fajgazdagságának és változatosságának megőrzése a változó környezeti körülmények között napjaink fontos kihívása a mezőgazdaság, a vidékfejlesztés, a környezetvédelem és az egész emberiség számára egyaránt.

A *Festuca* L. nemzetség a pázsitfűfélék (*Poaceae*, *Pooideae*, *Loliineae*) egyik legnagyobb nemzetsége, amely több mint 450 fajjal (CLAYTON & RENVOIZE 1986) a mérsékeltövi gyepterület (sziklai gyepek, száraz és félszáraz gyepek, löszgyepek, mocsárrétek, láprétek, kaszálórétek stb.) állományalkotó taxonjai közé tartozik. A „*Festuca*” kifejezés latin szóból ered, jelentése gyom, gyomos fű, ennek ellenére igen jelentős gazdasági értékük miatt a nemzetség fajait mégsem gyomnövényekként, hanem jelentős biológiai-ökológiai haszonnövényekként tartjuk számon.

A széleslevelű *Festuca* L. taxonok közül különösen a *Festuca pratensis* agg. és rokonsági körének közép-európai populációi, mint genetikai tartalék-anyagok érdemelnek kiemelt figyelmet, mivel nem csak a spontán flórában fordulnak elő, hanem fontos nemesítési alapanyagokként egyes tájfajták és termesztett fajták alapjait is képezik. A fűnemesítési programok révén ma már közel száz értékes fajtájuk van forgalomban. Gazdasági értéküket bizonyítja az is, hogy világviszonylatban és a közép-európai országokban is a termesztett fűfélék közül a második legnagyobb csoportot képezik.

A *Festuca* nemzetség egészére vonatkozó anatómiai és filogenetikai kutatásoknak kiterjedt szakirodalma ismert, a széleslevelű taxonok közép-európai természetes populációinak levélanatómiai (és molekuláris biológiai) feldolgozásáról viszonylag kevés adat áll rendelkezésünkre, így levélanatómiai (mikromorfológiai és mikromorfometriai) vizsgálataink és előzetes molekuláris biológiai elemzéseink a jelzett hiányosságok pótlására vonatkoznak. A közép-európai széleslevelű csenkesz (*Festuca* L.) taxonok természetes populációira vonatkozó kutatásainkkal a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Milyen kvalitatív és kvantitatív levélanatómiai bélyegek jellemzik a széleslevelű *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségek taxonjait?
2. Milyen levélanatómiai jellemzők tükrözik a rokonsági viszonyokat?
3. Melyek a taxonok, mikrotaxonok legfontosabb differenciáló levélanatómiai bélyegei?
4. Milyen jellemzőkben nyilvánul meg és milyen mértékű az anatómiai bélyegek változatossága a taxonok és a populációk között?
5. Van-e összefüggés a vizsgált taxonok anatómiai bélyegei és a földrajzi eredetük között?
6. Van-e kapcsolat az anatómiai változatosság és a genetikai diverzitás között előzetes RAPD vizsgálataink alapján?
7. Mely populációk rendelkeznek nemesítési szempontból előnyös tulajdonságokkal?

2. Anyag és módszer

2.1. A vizsgálatokban szereplő taxonok és populációk

A vizsgálatainkat Közép-Európa, különösen a Kárpát-medence természetes flórájában előforduló, változatos kromoszómaszámú széleslevelű *Festuca* taxonokon végeztük. A gyűjtési területünk kelet-nyugat irányban a Keleti Kárpátoktól a Keleti-Alpokig (Dolomitok) terjedt. A vizsgálatokhoz szükséges minták és egyedek begyűjtését, a terepi megfigyeléseket 2005-2011 között végeztük. A gyűjtési helyek kiválasztásánál szem előtt tartottuk, hogy a vizsgálati anyag természetes élőhelyről, különböző földrajzi területekről és ugyanazon taxon különböző típusú élőhelyeiről származzon. A 49 vizsgált populáció a Közép-Európában előforduló széles levelű csenkeszek 7 taxonját képviseli (*Drymanthele* alnemzetség: *F. altissima*: Perőcsény-40/7, Hörmann-forrás-40/8, Ausztria-40/9; *F. drymeja*: Sepsiköröspatak-21, Sepsibodok-22*, Szencsed-23*, Harangmező-47, Óház tető-43, Hörmann forrás-45, Hétforrás-46; *Schedonorus* alnemzetség: *Schedonorus* szekció: *F. pratensis* subsp. *pratensis*: Zalasántó-12*, Alsóverecke-14, Gyergyószentmiklós-16*, Kalibáskő-17, Veresvíz-19*, Lemhény-20*, Koloska-26*, Rugonfalva-29, Mezőpagocsa-27; *F. pratensis* subsp. *apennina*: Sesto-2*, Sesto-3*, Comelico-5*, Croce-6*, Cortina d'Ampezzo-7*, Falzarego-9, Andraz-10, Arabba-11*, Borsa-18*; *F. arundinacea* subsp. *arundinacea*: Koloska-13, Cegléd-25*, Bedellő-24*, Rugonfalva-28, Sesto-1, Cortina d'Ampezzo-7a*, Kede-31, Lukácsháza-33; *F. arundinacea* subsp. *orientalis*: Darvas-35, Mezőzáh-36, Mezőpagocsa-15*; *Plantynia* szekció: *F. gigantea*: Kápolnásfalu-81,

Homoródalmás-82, Décsfalva-83, Havasgáld-84, Jádremete-85, Királykút-86, Nagy-hideg hegy-87, Hétforrás-88, Hörmann-forrás-89, Vasvár-90). A vizsgált populációk összesen 41 helyszínről és 26 élőhely típusból származnak. A vizsgált taxonok populációinak egyedeiből egy kísérleti kertben fenntartott kollekción hoztunk létre, és herbáriumi anyagot is rögzítettünk. Az anatómiai vizsgálatokat a NYME SEK Biológiai Intézetének Növényteni Tanszékén, a scanning elektronmikroszkópos vizsgálatokat a NYME SEK Természettudományi Karán végeztük, a molekuláris biológiai (RAPD-PCR) vizsgálatok pedig az Erdészeti Tudományos Intézet Sárvári Kísérleti Állomásán működő Genetikai Laboratóriumában az Intézet munkatársainak vezetésével, segítségével történtek.

A molekuláris biológiai vizsgálataink nem terjednek ki a teljes populációkörre, mivel azt az anatómiai vizsgálataink kiegészítése képpen csak előzetes vizsgálatnak szántuk, hogy megbizonyosodjunk, a módszer alkalmas-e a taxonok és a populációk elkülönítésére, és betekintést nyerjünk az anatómiai változatosság és genetikai változatosság közötti kapcsolatra vonatkozóan. Vizsgálatainkhoz a RAPD módszert választottuk, amely nagy tisztaságot, pontosságot és többféle primer alkalmazását igényli, amely jelen esetben hatványozottan megnövelte volna a vizsgálataink idő- és energiaigényét, ezért a fent említett céllal a RAPD vizsgálatokat csak 5 taxon 18 populációján (a * - gal jelzett populációkon) végeztük el. A *Drymanthele* alnemzetségbe tartozó *F. drymeja* faj genetikailag is (HAND et al. 2010) jól elkülönül a *Schedonorus* alnemzetség taxonjaitól, ezért jelen esetben a *Schedonorus* alnemzetség populációinak RAPD vizsgálatánál külső csoportként használtuk.

2.2. Mintavétel az anatómiai, scanning elektronmikroszkópos és molekuláris biológiai vizsgálatokhoz

A szövettani vizsgálatainkhoz a zászlós leveleket választottuk. A mintákat ép, egészséges, kifejlett levelekből, azoknak középső, legszélesebb részéből vettük és a begyűjtéskor 70%-os etilalkoholban fixáltuk, majd 6-12 óra elteltével a Strasburger-Flemming féle konzerváló elegyben (96%-os etilalkohol:99,5%-os glicerin:deszt.víz=1:1:1 arányú keveréke) tároltuk.

A scanning elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz is az így tartósított levélmintákat használtuk fel, mivel ezt az általunk használt készülék lehetővé tette.

A RAPD-PCR vizsgálatokhoz mintavételi helyszínenként 5-10 egyed fiatal leveleiből gyűjtöttünk, melyeket a felhasználásig fagyasztva tároltunk (HAJÓSNÉ 1999).

2.3. Anatómiai vizsgálatok

Anatómiai vizsgálataink a levél keresztmetszet és a bőrszövet színi illetve fonáki szerkezetének mikromorfológiai és mikromorfometriai tanulmányozására egyaránt kiterjedtek. A levél keresztmetszeteket egyszerű kézi technikával, zsilettpenge segítségével

készítettük és a metszeteket a tisztítási, festési, víztelenítési eljárás után kanadabalzsamban zártuk le (SÁRKÁNY & SZALAY 1964, MIHALIK et al. 1999).

A preparátumokon a már METCALFE (1960) és ELLIS (1976, 1979) által is említett, a *Festuca* nemzetségre vonatkozó kiemelt karaktereket (12 bélyeg) vizsgáltuk: a levél bordázottsága, a bordák (erek) száma, a mezofillum szerkezete, típusa, a szklerenchima szövet jelenléte, eloszlása, mennyisége (μm^2 / keresztmetszet), a fő-borda nyalábjainak száma, a nyalábhüvely típusa, az ízületi sejtek típusa, nagysága, a levél él tulajdonságai, a sztómakomplexek típusa (mezomorf vagy xeromorf), a kutikula, papilla jelenléte, hiánya.

A bőrszövet tanulmányozásához az epidermisz-nyúzatokat egyszerű „lekaparásos” technikával készítettük, mivel ezzel a módszerrel gyorsan és nagy felületű (legtöbbször a levél teljes szélességében) ép bőrszövethez jutottunk. A nyúzatokat a keresztmetszetenél is alkalmazott tisztítási, festési és dehidratálási eljárások után szintén kanadabalzsamban fedtük le (SÁRKÁNY & SZALAY 1964, MIHALIK et al. 1999). Az epidermisz felépítését szintén a METCALFE (1960) és ELLIS (1976,1979) által említett, a pázsitfűvek bőrszövetének diagnosztikai bélyegeire vonatkozó útmutatásai szerint tanulmányoztuk. A bőrszöveten a színi (adaxialis) és a fonák (abaxialis) epidermiszen egyaránt, az ér-feletti (kosztális) és ér-közötti (interkosztális) mezőkön a következő bélyegeket tanulmányoztuk:

a) Kosztális zóna adaxialis és abaxialis oldalak: kosztális zónák szélessége (sejtsorok száma); kosztális sejtek hosszúsága (μm), szélessége (μm), antiklinális falaik lefutása; rövidsejtek (kovasejt, parasejt) gyakorisága (db/mm^2) és alakja, kovasejtek nagysága (hosszúság/szélesség arány);

b) Interkosztális zóna adaxialis és abaxialis oldalak: interkosztális zóna szélessége (sejtsorok száma); kosztális zóna melletti sejtek hosszúsága (μm), szélessége (μm), alakja, antiklinális falaik lefutása; rövidsejtek (kovasejt, parasejt) gyakorisága (db/mm^2) és alakja; sztómakomplexek közötti sejtek hosszúsága (μm), szélessége (μm), antiklinális falaik lefutása; sztómakomplexek sorainak száma; sztómakomplexek melléksejtjeinek típusa; sztómakomplexek hosszúsága (μm), szélessége (μm), gyakorisága (db/mm^2).

A preparátumokat NIKON LABOPHOT-2A típusú mikroszkóppal vizsgáltuk, Nikon D3550 típusú fényképezőgéppel fotóztuk. A mikromorfometriai méréseket Olympus DP-Soft 3.2 típusú képfeldolgozó rendszer segítségével végeztük.

A bőrszövet felületi, finomabb struktúráját scanning elektronmikroszkópos felvételeken tanulmányoztuk, TM-3000 típusú készülék segítségével. A vizsgálatokhoz a 70%-os etanolban fixált és 96%-os etanol:glicerin:deszt.víz = 1:1:1 arányú keverékben tárolt levélmintákat használtunk aranyozás nélkül, mivel az általunk használt készülékkel így is jó minőségű felvételeket tudtunk készíteni. A minták színi (adaxialis) és fonáki (abaxialis) oldalán egységesen a levél közép részéről és a levél széléről is készítettünk 100x és 200x

nagyítású felvételeket (SNOW 1996, MIHALIK et al. 1999) és a következő bélyegeket tanulmányoztuk a bőrszövet színi és a fonák felszínén is: trichómák típusa, hosszúsága (μm), szélessége (μm) és gyakorisága (db/ 1mm^2).

2.4. A minták elemzése RAPD - PCR módszerrel

A DNS kivonási technikákat (izolálás, agaróz gélelektroforézis stb.) a standard módszerek szerint, valamint a gyártó cég utasításait követve végeztük.

A leginkább változatos, ugyanakkor megfelelően tiszta mintázatot szolgáltató primerek kiválasztása céljából az OPERON (Eurofins MWG Operon, <http://www.operon.com/>) sorozatból a következő primereket teszteltük: **A1, A2, A8, A10, B11, D5, E9, H2, N6, P3**. A teszt minden primer esetében 5 mintával zajlott. A PCR reakció összeállítását a következő optimalizált recept szerint végeztük: 2 μl 5x puffer (PromegaGoTaq Flexi), 0,6 μl MgCl_2 (2,5 mM), 1,0 μl primer (10 pM), 0,1 μl dNTPmix (Promega) (10 mM), 0,4U Polymeráz (PromegaGoTaq Flexi), PCR vízzel kiegészítve 15 μl -re, 1,2 μl DNS-minta. A PCR reakció Eppendorf Mastercycler Gradient készülékkel történt.

A PCR reakció eredményeként kapott fragmentumok szétválasztása a méret szerinti elemzéshez agaróz gélelektroforézissel történt, 1,75%-os agaróz gél (Roti[®] agarose NEEO, Roth GmbH) segítségével. A futtatást 1x TAE pufferrel és 120 V feszültség mellett, 3 órán át Sigma-Aldrich Midi futtatókádban végeztük. A pontos méretek meghatározásához 100-5000 bázispár méretezésű standardot alkalmaztunk (100bp DNA Ladder, Roth GmbH). A fragmentumok megjelenítésére a gél GelRed (Biotium Inc.) festékkel festettük, majd UV fénnel átvilágítottuk. A megjelenő mintázatot digitális fotózással dokumentáltuk. Egy gélen egyszerre 25 mintát futtattunk.

A mintáinkon az így kiválasztott négy primerrel (**A8, H2, E9, P3**) történt a PCR reakció és az agaróz gélelektroforézis kivitelezése, populációként 5-10 mintán.

A digitális gélfotókat (ujjlenyomat kép) Kodak 1D elemző szoftver segítségével értékeltük és bináris kódolással kódoltuk a további genetikai elemzésekhez.

2.5. Statisztikai elemzés

A mikromorfometriai adatok elemzése a Past statisztikai program 2.17b (HAMMER et al. 2001) segítségével történt. Az előzetesen logaritmált adatok összehasonlítását a One-way-ANOVA varianciaanalízis (Tukey páronkénti összehasonlítás) segítségével végeztük el. Azon adatok esetében, ahol nem volt normál az adatok eloszlása (Shapiro-Wilk teszt) Kruskal-Wallis tesztet (Mann-Whitney páronkénti összehasonlítás) alkalmaztunk.

A populációknak a kovasejtek gyakorisága és mérete szerinti csoportosulását a Ward-módszer szerinti klaszter analízissel végeztük, a szklerenchima szövet mennyisége és az

ízületi sejtek közötti kapcsolat megismeréséhez korreláció analízist használtunk. A populációk mikromorfometriai bélyegei alapján való összehasonlításához az ordinációs eljárások közül a metrikus többdimenziós skálázást (PCoA – Canberra hasonlósági koefficiens) alkalmaztuk, az adatelemzéshez a SYNTAX szoftvercsomagot használtuk (PODANI 2000).

3. Eredmények és megvitatásuk

A *Festuca* nemzetség *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségeibe tartozó széleslevelű csenkesz taxonok **levél keresztmetszeti** vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a heterogén **mezofillum** valamennyi taxon esetében kimutatható, a szivacsos parenchima mellett a paliszád parenchima előfordulhat a színi és a fonák epidermisz alatt egyaránt. A fonák epidermisz alatt a paliszád parenchima minden taxon esetében megfigyelhető, de a színi epidermisz alatt csak a *F. pratensis* subsp. *pratensis* és *F. pratensis* subsp. *apennina* taxonok egyes populációinál jellemző. A paliszád parenchima megjelenése a populációk esetében nem egyformán hangsúlyos, a színi és a fonák epidermisz alatti paliszád szövet kifejezettebb megjelenése látható a *F. pratensis* subsp. *pratensis* 14-, 16-, 17- és 26-os, valamint a *F. pratensis* subsp. *apennina* 5- és 11-es populációinál. Az ilyen mezofillum a populációk géntartalék anyagként való felhasználása során igen előnyös tulajdonságnak tekinthető.

A bőrszövet alatti paliszád parenchima mellett egyes populációknál a nyaláb körül sugár irányba rendeződő, „paliszád-szerű” sejteket figyeltünk meg. A nyaláb körüli sugár irányba rendeződő sejteket a C_3 -as fajokra vonatkozóan az irodalmi adatok nem említik, viszont saját megfigyeléseink alapján hangsúlyos megjelenésük egyértelműen jellemző a *F. pratensis* subsp. *pratensis* és *F. pratensis* subsp. *apennina* alfajok egyes populációinál. A *F. arundinacea* populációknál már ritkábban fordul elő (csak néhány nyaláb esetében), a *F. gigantea*-nál és a *Drymanthele* alnemzetség fajainál (*F. altissima*, *F. drymeja*) viszont már egyáltalán nem jellemző. A fenti két jellemző szoros összefüggést mutat, vagyis a színi oldali oszlopos parenchima megjelenése együtt jár a nyalábok körüli radiálisan rendeződő sejtek megjelenésével.

A *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségek mezofillum szerkezetében alapvető különbség, hogy a *Drymanthele* alnemzetség taxonjainál (*F. altissima*, *F. drymeja*) az ízületet sejteket a mezofillum felől szabályosan rendeződő ún. *lapos* sejtek csoportja szegélyezi, amely a *Schedonorus* alnemzetség fajainál nem figyelhető meg. Ezen sejttípusról az irodalmi adatok nem tesznek említést, megállapításunk szerint ez a szerkezet a két alnemzetség közötti egyik jól differenciáló taxonómiai bélyegnek tekinthető.

A *Schedonorus* alnemzetség taxonjainak levelét **bordázottnak**, a *Drymanthele* alnemzetség taxonjainak levelét inkább gyengén bordázott típusúnak tartjuk. A középér

általában 1 **nyalábú**, csak a *F. gigantea* taxonra jellemző a 3 (4-5) nyaláb. A vizsgált taxonoknál az ereket kettős **nyalábhüvely** veszi körül, a belső szklerenchimatikus folytonos, a külső parenchimatikus hüvely a *Schedonorus* alnemzetség taxonjainál abaxialis (fonák) irányban megszakadt vagy folytonos is lehet. A *Drymanthele* alnemzetség taxonjainál az adaxialis (színi) és abaxialis (fonák) irányban egyaránt megszakadt parenchimatikus nyalábhüvelyt figyeltünk meg.

A levélben a **szklerenchima** szövet jelenléte, mennyisége fontos anatómiai bélyeg, a levél minősége szempontjából a szklerenchima mennyiségének ismerete fontos tényező a nemesítési munkálatokban. A szklerenchima szövet mennyiségét az ökológiai tényezők (szárazság, nedvesség) befolyásolhatják. Az általunk vizsgált populációknál az élőhely és a szklerenchima mennyisége között összefüggést nem tapasztaltunk. A legtöbb szklerenchima szövetet a *F. arundinacea* subsp. *arundinacea*, és a *F. arundinacea* subsp. *orientalis* populációknál mutattuk ki. A szklerenchima mennyiség meghatározásánál a szklerenchima bordák, kötegek számának ismerete mellett tapasztalataink szerint az ún. **színtelen** sejtek jelenlétét is szem előtt kell tartani, mivel a látszólag széles, fejlett szklerenchima kötegek felépítésében a nem szklerifikált sejtfalú, színtelen sejtek is részt vehetnek (pl. *F. arundinacea* vagy *F. gigantea* taxonok).

A *F. arundinacea* és a *F. drymeja* fajok populációinál szoros korrelációt mutattunk ki az **ízületi** sejtek mérete (hosszúsága, szélessége) és a szklerenchima szövet mennyisége ($\mu\text{m}^2/\text{levél keresztmetszet}$) között: *F. arundinacea* populációknál $R^2=0,6624$ az ízületi sejtek hosszúsága és $R^2=0,7171$ az ízületi sejtek szélessége esetében, a *F. drymeja* populációknál $R^2=0,9342$ az ízületi sejtek hosszúsága és $R^2=0,9477$ az ízületi sejtek szélessége esetében.

- A **bőrszövet** tanulmányozása során kimutattuk, hogy egyes irodalmi adatoktól eltérően (METCALFE 1960, WATSON & DALLWITZ 1992) nem csak a fonák, hanem mindkét epidermisz tanulmányozása egyaránt fontos. Számos, a taxonok közötti jól differenciáló bélyeget éppen a színi epidermisz jellemzőjeként (pl. kosztális zónában a kovasejtek gyakorisága, alakja, mérete) figyeltünk meg.

A színi és fonák epidermisz szerkezetének tanulmányozására vonatkozó részletes mikromorfológiai és mikromorfometriai vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált taxonok mind a minőségi (az egyes sejtípusok – hosszú, rövid – alakja, megjelenése, jelenléte vagy hiánya) mind a mennyiségi (a sejtek méretei, gyakorisága) bélyegek alapján jól elkülönülnek, a színi és a fonák epidermisz szerkezeti különbözősége is jól megmutatkozik. A taxonok és populációik változatossága a mennyiségi bélyegek terén minden esetben kimutatható. A taxonómiai és anatómiai is jelentős minőségi bélyegek terén számos esetben (pl. a kovasejtek alakja, típusa, a sztómakomplexek melléksejtjeinek típusa stb.) igen nagy változatosság jellemzi a populációkat.

A taxonok és a populációk változatossága az érzóna szerkezetét illetően legjobban a **kovasejtek** megjelenésében (magányos vagy parasejttel párban), alakjában és méretében mutatkozott meg. A kovasejtek differenciáló jellege nem csak a két alnemzetség között, hanem alnemzetségeken belül az egyes taxonok esetében is megnyilvánul, a taxonok jól elkülöníthetők a kovasejtek megjelenése, alakja és méretük együttes figyelembevételével.

Az **ér-közötti mezők** tanulmányozásánál megállapítottuk, hogy az érzóna melletti, sztómakomplex nélküli sorok száma, alakja és antiklinális falainak lefutása a *Schedonorus* alnemzetségen belül és a *Drymanthele* alnemzetségtől való elkülönítésében is differenciáló jellegű.

A levelek színi epidermisze minden taxon esetében **szőrözött**, a fonák epidermisz általában kevésbé. BURR & TURNER (1933) (cit. in METCALFE 1960) korábbi megfigyeléseit megerősítve, viszont METCALFE (1960) megállapításával ellentétben, az általunk vizsgált taxonok trichómái az ún. tüskeszőrök. A *Schedonorus* alnemzetség taxonjainál a tüskeszőrök két típusa, a „robosztus” és a „vékony” forma is előfordul, a *Drymanthele* alnemzetség taxonjaira csak a robosztus típusú tüskeszőrök jellemzőek. A trichómák gyakorisága az adott taxonon belüli populációk esetében nagy változatosságot mutat. Taxonok közötti differenciáló szerepe főleg a színi epidermisz érzónájában lévő tüskeszőrök hosszúságának van.

A szakirodalomban kevésbé tárgyalt **papillák** jelenlétét egyes szakirodalmi adatokkal ellentétben (METCALFE 1960, WATSON & DALLWITZ 1992), másokat (CONERT 1998, ZARINKAMAR & JOUYANDEH 2011) kiegészítve a *F. pratensis* taxonoknál a színi és a fonák epidermiszen, a *F. arundinacea* és *F. gigantea* taxonoknál inkább a színi epidermiszen tapasztaltuk, a *F. drymeja* és *F. altissima* taxonoknál pedig a hiányukat állapítottuk meg.

- A levélen a **sztómák** előfordulására vonatkozóan megállapítottuk, hogy a levelek a *F. pratensis* és *F. arundinacea* taxonoknál amfisztomatikus típusúak, a *F. gigantea* és a *Drymanthele* alnemzetség fajainak (*F. altissima*, *F. drymeja*) levele viszont inkább episztomatikus. Korábbi adatok (METCALFE 1960, NYAKAS 2003) a *F. pratensis* és a *F. arundinacea* taxonok levelét episztomatikus típusként jelzik. A sztómák típusa (mezomorf vagy xeromorf) is differenciáló jellegű a két alnemzetség taxonjai esetében, a *Schedonorus* alnemzetség taxonjainál a színi epidermiszen xeromorf, a fonák epidermiszen mezomorf, a *Drymanthele* alnemzetség taxonjainál a színi és a fonák epidermiszen egyaránt mezomorf típusúak.

A **sztómakomplexek** melléksejtjeinek típusa a taxonok és a populációk esetében is igen változatosan megjelenő bélyeg. Vizsgálataink során az összegző monografikus adatok pontosításaként (METCALFE 1960, WATSON & DALLWITZ 1992) kimutattuk, hogy a *Festuca* nemzetségben a párhuzamos oldalú, alacsony kupola és magas kupola típusú melléksejtek egyaránt fellelhetők a színi és a fonák epidermiszen is. A sztómakomplexek differenciáló

jellege a színi epidermiszen való gyakoriságukban mutatkozik meg, amely alapján a *Schedonorus* és a *Drymanthele* alnemzetség taxonjai egyértelműen elkülöníthetők egymástól. A *Drymanthele* alnemzetség taxonjainak sztómahosszúsága átlagosan nagyobb, akár többszörösen is (196-358 μm) a *Schedonorus* alnemzetség taxonjainak sztómakomplexeihez képest (24-193 μm).

- **Az eredmények gyakorlati alkalmazhatósága**

A tanulmányozott fajok és populációk közül a legelőnyösebb anatómiai tulajdonságok hordozóinak a következő **génforrás-anyagok** bizonyultak:

- *F. pratensis* subsp. *pratensis*: Kalibáskő-17, Veresvíz-19, Mezőpagocsa-27 populációk – az oszlopos parenchima hangsúlyos megjelenése és kevesebb szklerenchima szövet.
- *F. pratensis* subsp. *apennina*: Sesto-2, Borsa-18 populációk – az oszlopos parenchima hangsúlyos megjelenése, kevesebb szklerenchima szövet és kevesebb kovasejt. Arabba-11-es populáció – a különösen hangsúlyosan megjelenő (színi és fonák oldali) paliszád parenchimával és kevesebb szklerenchima mennyiséggel.
- *F. arundinacea* subsp. *arundinacea*: Cegléd-25, Cortina d'Ampezzo-7 populációk – a paliszád parenchima jelenléte, a kevesebb szklerenchima szövet és a kosztális zónákban lévő kevesebb kovasejt miatt.
- *F. arundinacea* subsp. *orientalis*: Mezőzáh-36 – a paliszád parenchima jelenléte és kevés szklerenchima szövet miatt.
- *F. gigantea*: Kápolnásfalu-81 – a paliszád parenchima jelenléte és a kevesebb szklerenchima mennyiség okán.
- *F. altissima*: Hörmann-40/8, Ausztria 40/7 – a hangsúlyos paliszád parenchima és a kevesebb kovasejt (kosztális zónákban) miatt.
- *F. drymeja*: Hörmann-45 – a paliszád parenchima jelenléte és a kevesebb szklerenchima szövet révén.

A molekuláris biológiai vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az irodalmi adatokhoz hasonlóan (CHEN et al. 1998, FJELLHEIM & ROGNLI 2005, LISZTES-SZABÓ et al. 2009) az általunk vizsgált taxonok genetikai polimorfizmusa magas (86-92%), legfőképpen a *F. pratensis* mikrotaxonoké. A RAPD PCR vizsgálataink alkalmasnak bizonyultak a taxonok közötti, az irodalmi adatoknak megfelelő (CATALÁN et al. 2004, 2007) genetikai különbségek kimutatására, a taxonok molekuláris szinten való elkülönítésére.

A taxonok genetikai szeparálódása a populációk szintjén is kimutatható volt: nagyobb genetikai távolsággal (11%) különülnek el egymástól a *Schedonorus* és a *Drymanthele* alnemzetségek, majd egy kisebb genetikai különbözőségi szintnél (3,5%) a *Schedonorus* alnemzetség *Schedonorus* szekciójának két eltérő kromoszómaszámú taxonja, a *F. pratensis*

és a *F. arundinacea* populációi. Az egymáshoz taxonómiai is közel álló diploid *F. pratensis* subsp. *pratensis* és tetraploid *F. pratensis* subsp. *apennina* mikrotaxonok populáció szintű elkülönülését nem tudtuk kimutatni. A genetikai és az anatómiai variabilitás közötti kapcsolatot vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy összefüggés van a populációk genetikai távolsága és a színi epidermisz érzőjében lévő **kovasejtek** gyakorisága és méretaránya (hosszúság/szélesség) között.

Ezen előzetes vizsgálataink eredményei és a kovatestek differenciáló szerepét hangsúlyozó irodalmi adatok (NAMAGANDA et al. 2008, ORTÚÑEZ & DE LA FUENTE 2010) alapján arra következtettünk, hogy a kovasejteknek a színi epidermisz ér-feletti zónájában való gyakorisága és mérete egy genetikailag erősebben determinált, a változó környezeti tényezők által kevésbé befolyásolható jellemzője lehet a bőrszövetnek. Éppen ezért szükségesnek tartjuk a kovatestek anatómiai jellemzői és a molekuláris biológiai hátterük közötti kapcsolat mélyebb vizsgálatát.

Az irodalmi adatokat (NYAKAS 2003) – miszerint a szklerenchima mennyisége a környezeti tényezők által erősen befolyásolt tulajdonság – megerősítve a populációk genetikai távolsága és szklerenchima szövet mennyisége között korrelációt nem mutattunk ki. Ugyanakkor a *F. pratensis* subsp. *pratensis* és *F. arundinacea* taxonok szklerenchima mennyisége alapján készített klaszterdiagramot és a genetikai távolság dendrogramját összehasonlítva azt gondoljuk, hogy a *F. pratensis* alaptaxonnál mért kevesebb, hozzá viszonyítva pedig a *F. arundinacea* taxonnál több szklerenchima jelenléte bizonyos mértékig genetikailag is befolyásolt tényező lehet.

A populációk magas genetikai polimorfizmusa (P=76-91 %) jelentős anatómiai változatossággal társul. A populációk különbözőségének statisztikai elemzése (PCoA módszer, Jaccard koefficiens) a jelentős változatosságot mutató mennyiségi (mikromorfometriai) bélyegek alapján azt mutatta, hogy a populációk a taxonómiai besorolásuknak (az alnemzetségek szerinti elkülönülés is kirajzolódik) és a genetikai távolságuknak megfelelően válnak szét egymástól.

4. Az új eredmények rövid összefoglalása

- Elsőként mutattuk be a *Festuca* nemzetség *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségekbe tartozó csenkesz taxonok közép-európai populációinak részletes, a levél keresztmetszet és a bőrszövet szerkezetére egyaránt kiterjedő levélanatómiai (mikromorfológiai és mikromorfometriai) jellemzőit.
- A *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségekbe tartozó taxonoknál a fonák epidermisz alatti paliszád parenchima rendszeresen előfordul: megjelenése, folytonos vagy megszakított jellege taxonómiai elkülönítő bélyeg a széleslevelű csenkeszek körében.

- A *F. p. subsp. pratensis* és *F. p. subsp. apennina* mikrotaxonoknál a nyaláb körül sugar irányba rendeződő, ún. „paliszád-szerű” sejtek vannak, amelyek előfordulása szoros összefüggést mutat a színi epidermisz alatti paliszád parenchima jelenlétével.
- A *Drymanthele* alnemzetség taxonjait a *Schedonorus*-tól elkülönítő jellemző, hogy az ízületi sejteket a mezofillum felől szabályosan rendeződő ún. *lapos* sejtek szegélyezik.
- Elsőként mutattuk ki, hogy a széleslevelű csenkeszek *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségeinek egyik elkülönítő bélyege a levél amfisztomatikus vagy episztomatikus jellege. Elsőként elemeztük a sztómák zárósejtjeinek az epidermiszsejtekhez viszonyított helyzetét a széleslevelű csenkeszek körében: a *Schedonorus* alnemzetségben a színi oldalon xeromorf, a fonák oldalon mezomorf típusúak; a *Drymanthele* alnemzetségben a színi és a fonák oldalon egyaránt mezomorf típusúak.
- A *F. arundinacea* és a *F. drymeja* taxonok esetében az ízületi sejtek mérete (hosszúság, szélesség) és a szklerenchima szövet mennyisége között szoros, pozitív korreláció van.
- Igazoltuk, hogy a papillák a *F. pratensis* taxonoknál a színi és a fonák epidermiszen egyaránt, a *F. arundinacea* és *F. gigantea* taxonoknál csak a színi epidermiszen fordulnak elő, a *F. drymeja* és *F. altissima* taxonoknál pedig hiányoznak.
- A kosztális zóna hosszúsejtjeinek hosszúsága a *F. gigantea* fajt a *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségektől elkülönítő, jól differenciáló taxonómiai bélyeg.
- Igazoltuk a színi epidermiszen lévő sztómakomplexek gyakoriságának és szélességének a *Schedonorus* alnemzetségen belüli valamint a *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségek közötti differenciáló szerepét.
- Kimutattuk, hogy a széleslevelű csenkeszek körében a színi epidermiszen lévő trichómák a legnagyobb gyakorisággal a *F. p. subsp. apennina* taxonnál jellemzőek.
- A bőrszövet érzónájában lévő kovasejtek jellemzőinek (megjelenés, alak, méret) differenciáló szerepe van a *Schedonorus* és *Drymanthele* alnemzetségek taxonjai, és az alnemzetségeken belüli taxonok esetében is.
- Összefüggést tapasztaltunk a populációk genetikai távolsága és a bőrszövet érzónájában lévő kovasejtek gyakorisága és mérete között, de szükségesnek tartjuk ezen észrevételünk további vizsgálatokkal való alátámasztását.
- A nemesítés során előnyös anatómiai tulajdonságokkal (paliszád parenchima jelenléte, kevesebb szklerenchima) rendelkező génforrás-anyagok a következő populációk: *F. p. subsp. pratensis*: Kalibáskő-17, Veresvíz-19, Mezőpagocsa-27; *F. p. subsp. apennina*: Sesto-2, Borsa-18, Arabba-11; *F. arundinacea* subsp. *arundinacea*: Cegléd-25, Cortina d’Ampezzo-7; *F. a. subsp. orientalis*: Mezőzáh-36; *F. gigantea*: Kápolnásfalu-81; *F. altissima*: Hörmann-40/8, Ausztria 40/7; *F. drymeja*: Hörmann-45.

5. Irodalomjegyzék

- CATALÁN P., TORRECILLA P., LOPEZ-RODRIGUEZ J. A., OLMSTEAD R. G. (2004): Phylogeny of the festucoid grasses of subtribe *Loliinae* and allies (*Poeae*, *Pooideae*) inferred from ITS and *trnL-F* sequences. – Mol. Phylogen. Evol. 312: 517-541.
- CATALÁN P., TORECILLA P., LOPEZ-RODRIGUEZ J. A., MÜLLER J., STACE C. A. (2007): A systematic approach to subtribe *Loliinae* (*Poaceae*: *Pooideae*) based on phylogenetic evidence. – Aliso 23: 380-405.
- CHEN C., SLEPER D. A., JOHAL G. S. (1998): Comparative RFLP mapping of meadow and tall fescue. – Theor. Appl. Genet. 97:255-260.
- CLAYTON W. D., RENVOIZE, S. A. (1986): Genera Graminum. Grasses of the World. – Kew Bull. Addit. Ser. 13. Her Majesty's Stationery Office, London.
- CONERT H. J. (HRSG.) (1998): Spermatophyta: Angiospermae: Monocotyledones 1 (2), *Poaceae* (Echte Gräser oder Süßgräser). 3. Auflage. In: CONERT H. J., JÄGER E. J., KADEREIT J. W., SCHULTZE-MOTEL W., WAGENITZ G., WEBER H. E. (Hrsg.): G. Hegi-Illustrierte Flora von Mitteleuropa Band I, Teil 3. – Parey Buchverlag, Berlin.
- ELLIS R. P. (1976): A procedure for standardizing comparative leaf blade anatomy in the *Poaceae* I. The leaf blade as viewed in transverse section. – Brothalia 12 (1): 65-109.
- ELLIS R. P. (1979): A procedure for standardizing comparative leaf blade anatomy in the *Poaceae* II. The epidermis as seen in surface view. – Brothalia 12 (4): 471-641.
- FJELLHEIM S., ROGNLI O. A., (2005): Molecular diversity of local Norwegian meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) populations and Nordic cultivars – consequences for management and utilization. – Theor. Appl. Genet. 111 (4): 640-650.
- HAJÓSNÉ N. M. (1999): Genetikai variabilitás a növénynevelésben. – Budapest, Mezőgazda kiadó.
- HAND L. M., COGAN OL. N., STEWART V. A., FORSTER W. J. (2010): Evolutionary history of tall fescue morphophytes inferred from molecular phylogenetics of the *Lolium-Festuca* species complex. – BMC Evolutionary Biology 10 (303): 1-17.
- LISZTES-SZABÓ ZS., ZUBOR Á., TÓTHMÉRÉSZ B., PAPP M., PROKISCH J. (2009): Morphological and AFLP variation in some genotypes of *Poa angustifolia* L. and *Poa humilis* Ehrh. ex Hoffm. – 44th International Symposium on Agriculture, Croatia, pp. 345-349.
- METCALFE C. R. (1960): Anatomy of Monocotyledons I. Gramineae. – Clarendon Press, Oxford.
- MIHALIK E., NYAKAS A., KÁLMÁN K., NAGY E. (1999): Növényanatómiai praktikum. – JATEPress, Szeged.
- NAMAGANDA M., LYE K. A. (2008): A taxonomic comparison between tropical African and

- related European broad-leaved species of *Festuca* L. (*Poaceae*). – South African Journal of Botany 74 (2): 295-305.
- NYAKAS A. (2003):** Száraz termőhelyek pázsitfűveinek összehasonlító levélanatómiai vizsgálata a magyar flórában. – Növényi élet és a stressz: Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum által rendezett tudományos ülés: Debrecen, 2003. november 13.
- ORTÚÑEZ E., DE LA FUENTE V. (2010):** Epidermal micromorphology of the genus *Festuca* L. (*Poaceae*) in the Iberian Peninsula. – Plant Syst. Evol., (284): 201–218.
- PODANI J. (2000):** Introduction to the exploration of multivariate biological data. – Backhuys Publishers, Leiden.
- SÁRKÁNY S., SZALAY L. (1964):** Növénytani praktikum I. Növénysszervezettani gyakorlatok. – Tankönyvkiadó, Budapest.
- SNOW N. (1996):** The phylogenetic utility of lemmatal micromorphological characters in *Leptochloa* and related genera in subtribe Eleusininae (*Poaceae*, Chloridoideae, Eragrostidae). – Annals of the Missouri Botanical Garden 83: 504-529.
- WATSON L. DALLWITZ M. J. (1992):** The grass genera of the world. – C. A. B. International, Wallingford, Oxfordshire, CAB International.
- ZARINKAMAR F., JOUYANDEH N. E. (2011):** Foliar anatomy and micromorphology of *Festuca* and its taxonomic applications. – Taxonomy and Biosystematics, 8: 55-63.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk:

- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2014): Leaf anatomical structures in Central European populations of the broad-leaved *Festuca* taxa. – *Acta Botanica Hungarica* 56 (3-4) (in press)
- DANI M., FARKAS Á., CSEKE K., FILEP R., KOVÁCS J. A.** (2013): Leaf epidermal characteristics and genetic variability in Central European populations of broad leaved *Festuca* L. taxa. – *Plant Systematics and Evolutions* 300:431–451. [IF: 1,312]
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2011): Leaf epidermal investigations on *Festuca pratensis* Huds. subspecies. – *Acta Biologica Szegediensis* 55 (2): 237-241.
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2011): Levélepidermisz vizsgálatok *Festuca pratensis* és *Festuca arundinacea* populációkon. – A Nyugat-magyarországi egyetem Savaria Egyetemi Központ Tudományos Közleményei XVIII., Természettudományok 13. Supplementum, pp. 47-57.
- DANI M., KOVÁCS J. A., GACS A.** (2010): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca arundinacea* közép-európai populációin. – IX. Természet-, műszaki és gazdaságtudományok alkalmazása Nemzetközi Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Szombathely, 2010. május 15. , CD kiadvány (ISBN: 9-639290-69-6)
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2009): Levélepidermisz vizsgálatok a *Festuca pratensis* agg. közép-európai populációin. – VIII. Természet-, műszaki és gazdaságtudományok alkalmazása Nemzetközi Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Szombathely, 2009. május 23. , CD kiadvány (ISBN: 9-639290-69-6)
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2008-2009): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca altissima* All. és *Festuca drymeja* Mert & W. D. J. Koch populációkon, *Kanitzia* 16: 133-145.
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2007): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca pratensis* agg. közép-európai populációin, *Kanitzia* 15: 35-46.
- KOVÁCS J. A., DANI M.** (1999): *Festuca pratensis* Huds. és *Festuca arundinacea* Schreb. populációk géntartalék és morfo-anatómiai vizsgálata, *Kanitzia* 7: 91-116.

A disszertáció témájához kapcsolódó konferenciaszereplések és előadások:

- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2013): Levélanatómiai és molekuláris biológiai vizsgálatok széles levelű csenkesz (*Festuca*) taxonokon. – VII. Regionális Természettudományi Konferencia, NYME SEK, Szombathely, 2012. január 24.
- DANI M., FARKAS Á., CSEKE K., GACS A., KOVÁCS J. A.** (2012): Réti csenkesz fajcsoport populációinak anatómiai és genetikai diverzitása. – Poszter. XIV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium, Pécs, 2012. szept. 28., Program és összefoglalók: 55.
- DANI M., CSEKE K., KOVÁCS J. A.** (2012): Réti csenkesz fajcsoport populációinak genetikai diverzitás vizsgálata. – Előadás. VII. Regionális Természettudományi Konferencia, Szombathely, 2012. január 26.
- DANI M., GACS A., KOVÁCS J. A.** (2011): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca altissima* All. és *Festuca drymeja* M. et K. néhány populációján. – Előadás. X. Természet-,

Műszaki- és Gazdaságtudományok Alkalmazása Nemzetközi Konferencia, Szombathely, 2011. május 21.

- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2011): Levélepidermisz vizsgálatok réti csenkesz és nádképű csenkesz populációkon. – Előadás. VI. Euro-regionális Természettudományi Konferencia, NYME SEK TTK, Biológiai Intézet, Növénytan Tanszék, 2011. január 25-27., Előadások kivonata: 16-17.
- DANI M., KOVÁCS J. A., GACS A.** (2010): Összehasonlító levélepidermisz vizsgálatok a *Festuca pratensis* agg. közép-európai populációin. – Előadás. XIV. APÁCZAI-NAPOK Nemzetközi Tudományos Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem Apáczai Csere János Kar, Győr, 2010. október. 14-15., Absztraktfüzet: 87.
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2010): *Festuca pratensis* Huds. alfajok levél epidermisz vizsgálata. – Poszter. XIII. Magyar Növényanatómiai Szimpózium, Szeged, 2010. október 21.
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2009): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca altissima* All. és *Festuca drymeia* M. & K. populációkon. – Előadás. IV. Regionális Természettudományi Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Szombathely, 2009. január 29., Program és az előadások összefoglalói: 5-6.
- DANI M., KOVÁCS J. A.** (2008): Levélanatómiai vizsgálatok a *Festuca pratensis* Huds. taxonoknál. – Előadás. III. Regionális Természettudományi Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Szombathely, 2008. január 31., Program és az előadások összefoglalói: 19-20.
- DANI M.** (2006): Morfo-anatómiai bélyegek vizsgálata a *Festuca pratensis* Huds. fajcsoportban. – Előadás. Régiók és a Természettudományok Konferencia, BDF TTK, 2006. november 8.
- KOVÁCS J. A., DANI M.** (2006): Morfo-anatómiai bélyegek vizsgálata a *Festuca pratensis* Huds. fajcsoportban. – Poszter. XII. Magyar Növényanatómiai Szimpózium Sárkány Sándor emlékére, Budapest, 2006. június 22-23.
- KOVÁCS J. A., DANI M.** (2001): *Festuca pratensis* Huds. és *Festuca arundinacea* Schreb. alapanyag vizsgálata – XI. Magyar Növényanatómiai Szimpózium, Keszthely, Összefoglalók: 54-55.

A disszertáció témájához kapcsolódó könyvfejezet:

- DANI M.** (2014): A réti csenkesz fajcsoport genetikai változatossága. – In: BARÁTH K. (szerk.) Kanitzia Köszöntő – Tanulmányok Kovács J. Attila 70. születésnapja tiszteletére, NYME SEK Biológiai Intézet, Szombathely, pp. 46-61.

A disszertáció témakörén kívül megjelent publikációk:

- KOVÁCS J. A., DANI M.** (2005): Adatok a *Peucedanum carvifolia* Vill. populációk morfo-anatómiai és cönológiai vizsgálatához. – Kanitzia 13: 109-124.
- DANI M., STRAUB P.** (2002): Késő középkori temetkezés erdeifenyő koporsómaradványa. – Keszthely-Fenékpusztáról, BDF Tudományos Közleményei XIII, Természettudományok 8: 135-144.